

Alterazioni metaboliche, stress cellulari e processi neurodegenerativi



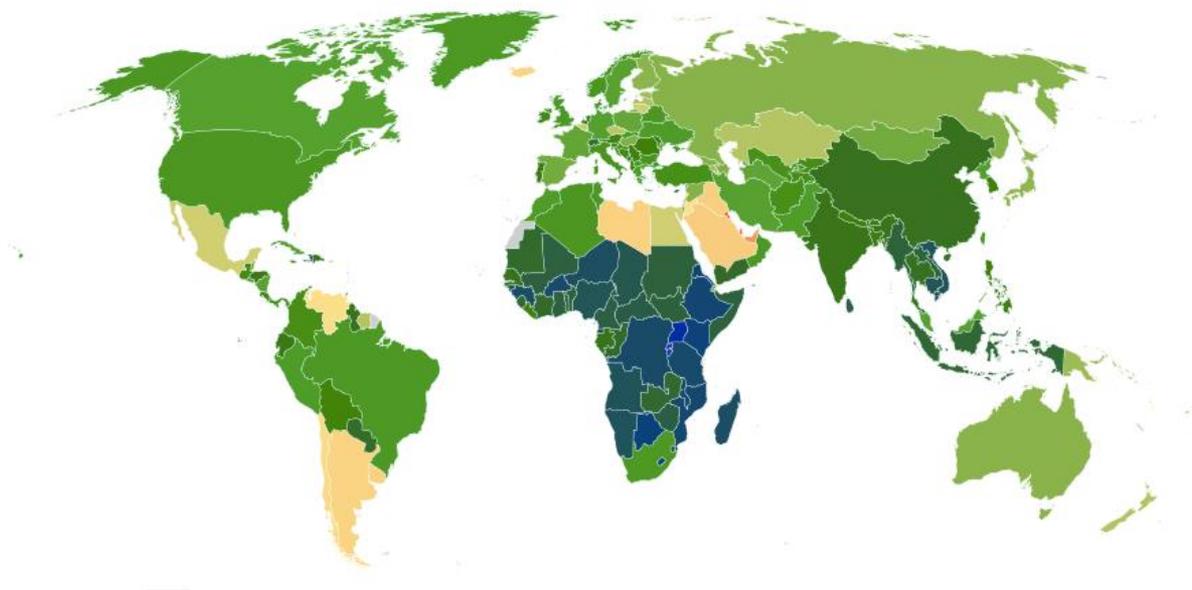
www.igm.cnr.it/amanda

1- CONTESTO **Gli stili di vita influenzano la salute, in particolar modo il metabolismo e la funzione cerebrale**

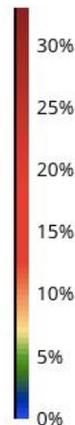
Men

1980

Switch to Globe



NCD·RisC
Risk Factor Collaboration



AMANDA

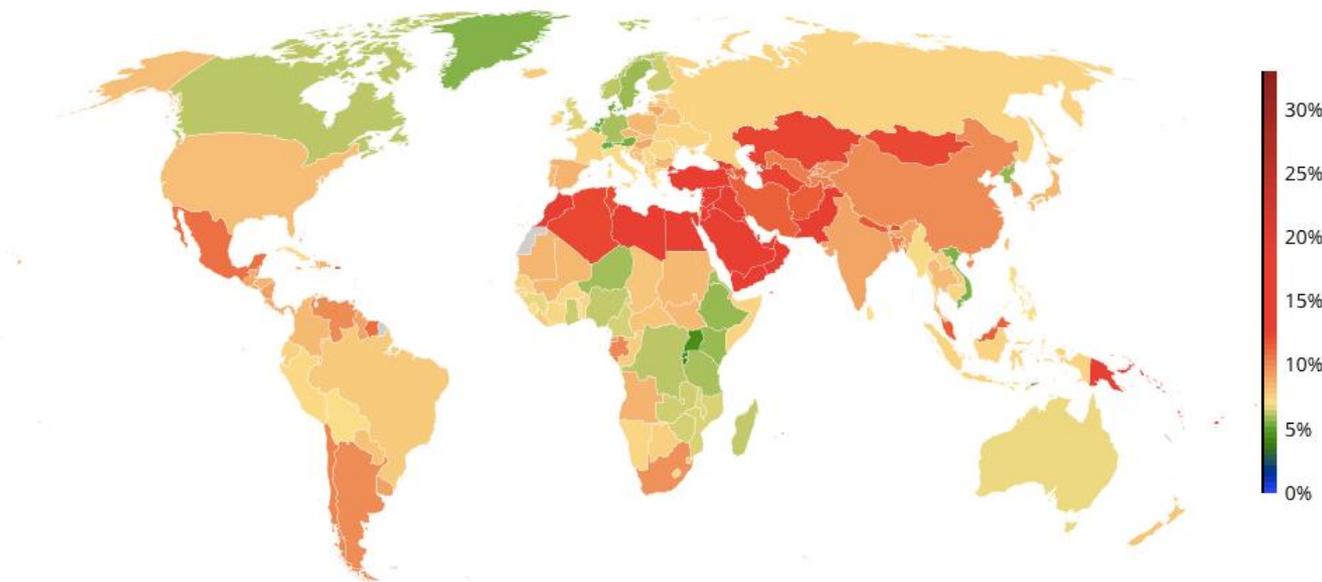


1- CONTESTO **Gli stili di vita influenzano la salute, in particolar modo il metabolismo e la funzione cerebrale**

Men

2014

Switch to Globe



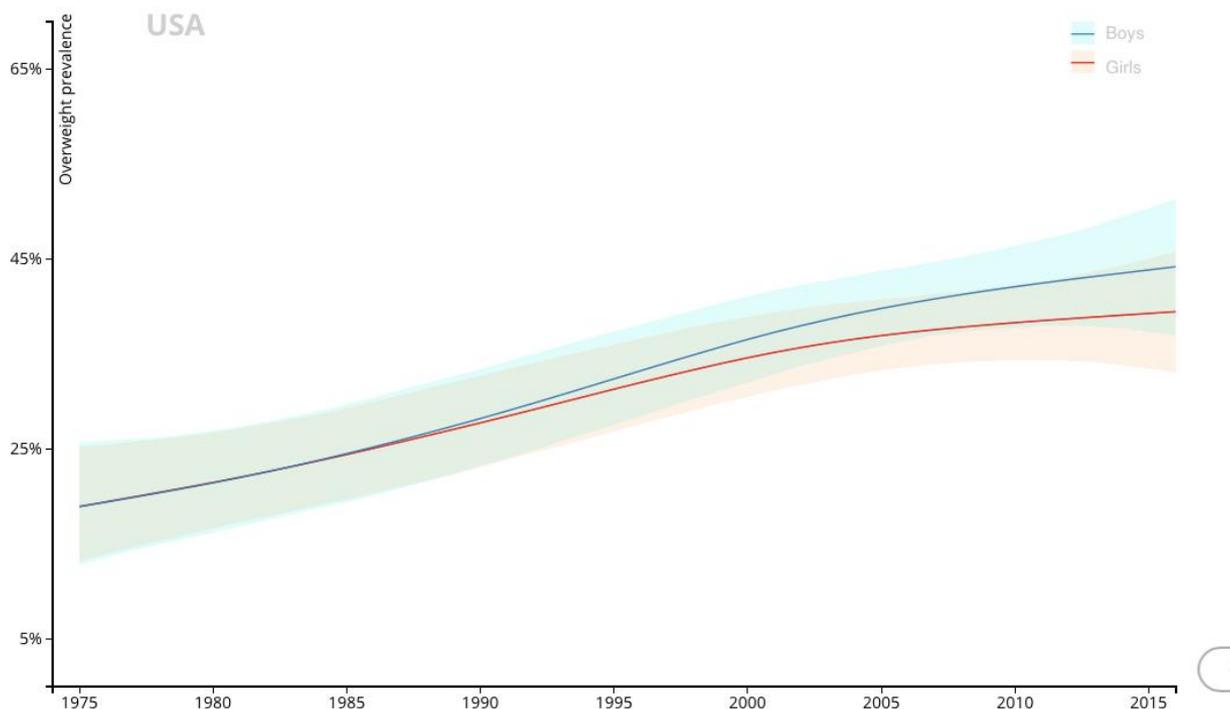
400 millions of people are affected by diabetes

600 millions of people within 2035

AMANDA



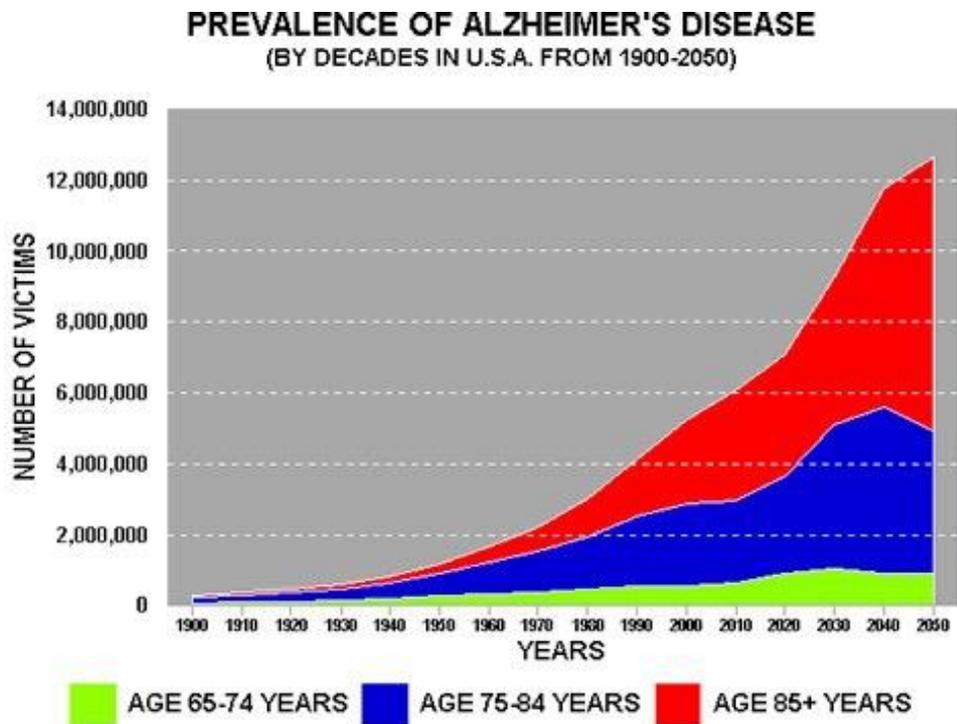
1- CONTESTO Gli stili di vita influenzano la salute, in particolar modo il metabolismo e la funzione cerebrale



AMANDA



1- CONTESTO Gli stili di vita influenzano la salute, in particolar modo il metabolismo e la funzione cerebrale



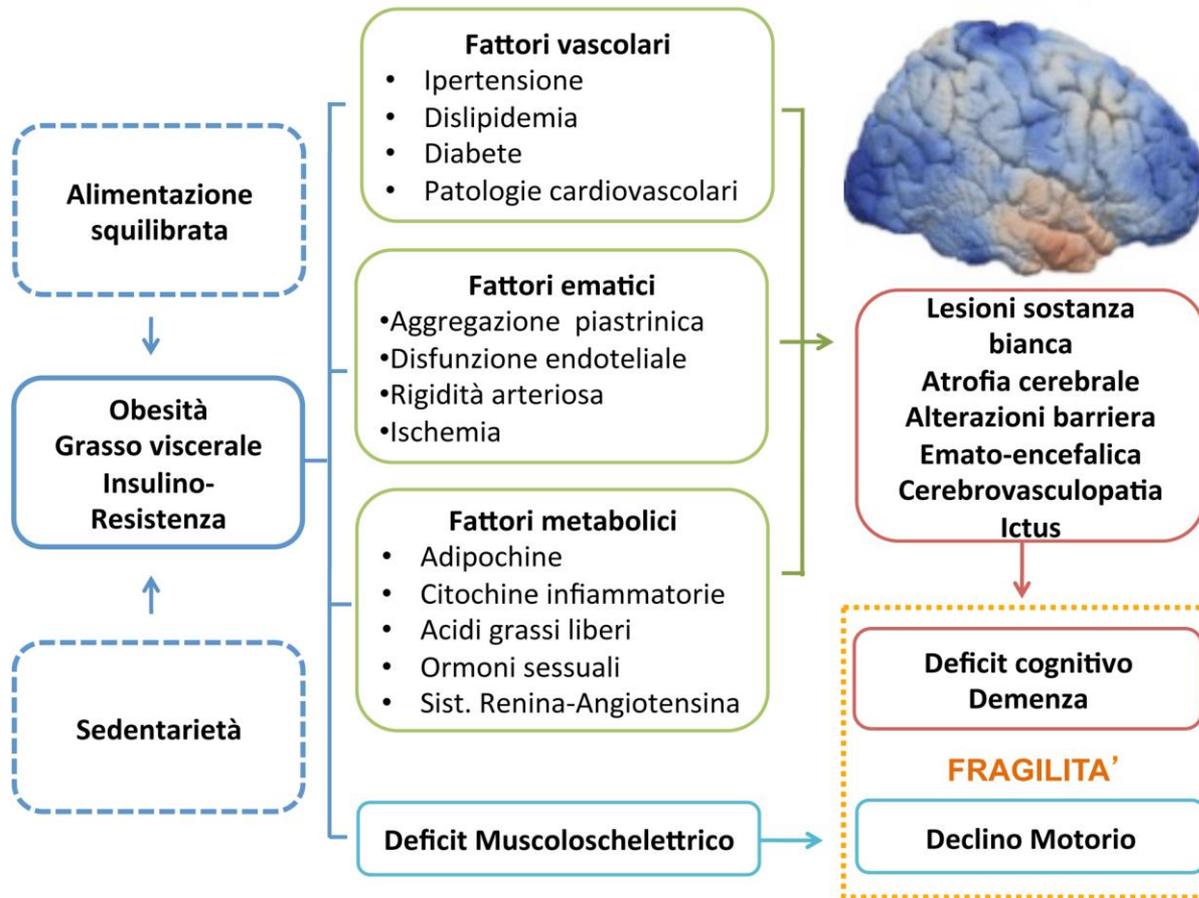
This graph portrays how many Americans over the age of 65 are currently affected by Alzheimer's, and a projection of how many more will become affected with it as time passes.
w3.ouhsc.edu

AMANDA



1- CONTESTO

Gli stili di vita influenzano la salute, in particolar modo il metabolismo e la funzione cerebrale



2- OBIETTIVI

- 1- Studiare i meccanismi cellulari e molecolari alla base della neurodegenerazione correlata ad alterazioni metaboliche
- 2- Identificare nuovi biomarcatori per la diagnosi precoce
- 3- Sviluppare nuovi strumenti diagnostici
- 4- Identificare nuovi possibili approcci terapeutici

AMANDA



3- ISTITUTI PARTECIPANTI

<ol style="list-style-type: none">1. Istituto di Bioimmagini e Fisiologia Molecolare (IBFM - www.ibfm.cnr.it) Segrate2. Istituto di Genetica Molecolare (IGM – www.igm.cnr.it) Pavia3. Istituto di Tecnologie Biomediche (ITB - www.itb.cnr.it) Segrate4. Istituto di Fisiologia Clinica (IFC - www.ifc.cnr.it) Milano5. Istituto di Neuroscienze (IN - www.in.cnr.it) Rozzano6. Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB - www.irgb.cnr.it) Rozzano	<p>DSB</p>
<ol style="list-style-type: none">7. Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare (ICRM - www.icrm.cnr.it) Milano	<p>DSCTM</p>

AMANDA



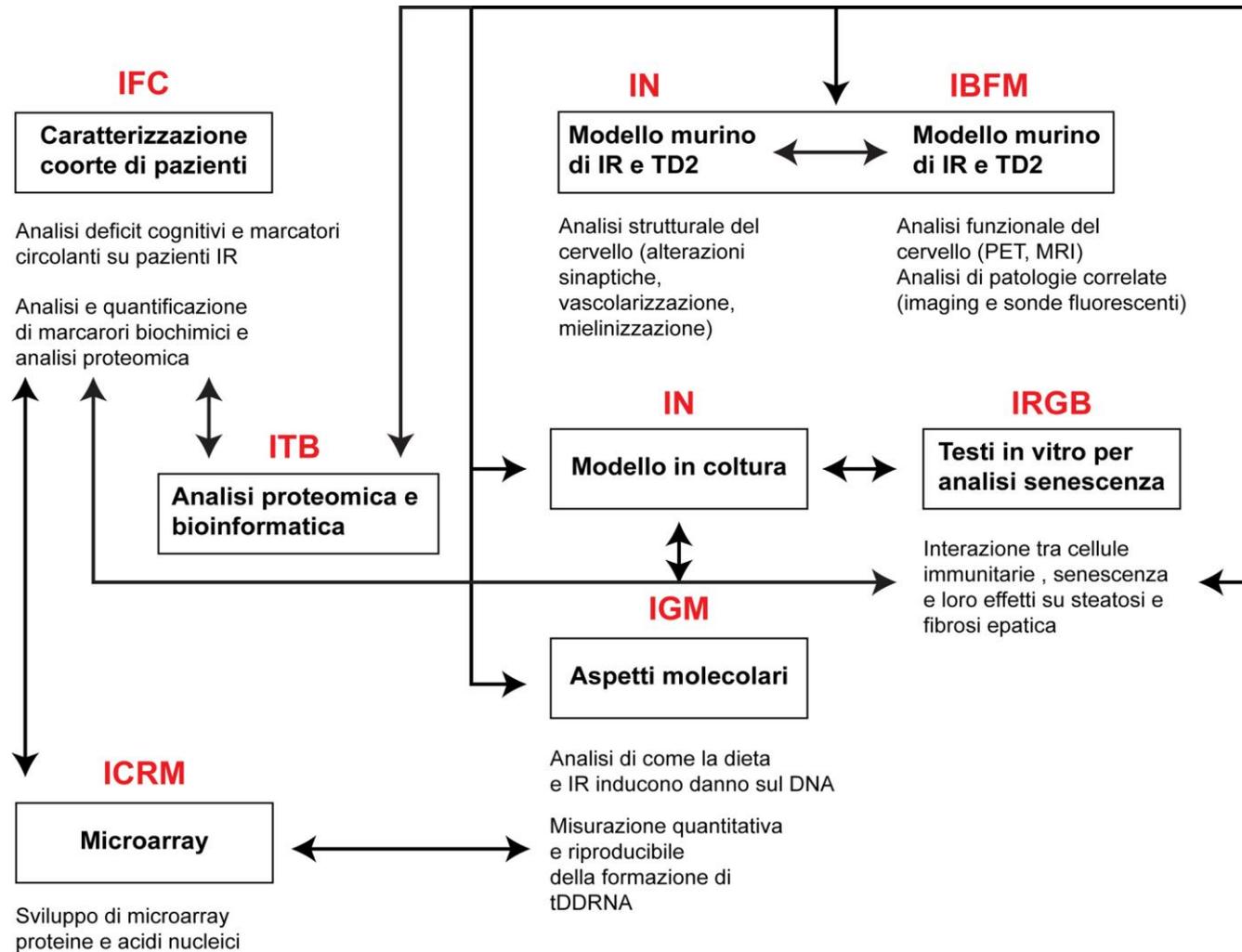
4- ORGANIZZAZIONE DEL PROGETTO

- WP1** GESTIONE DEL PROGETTO
- WP2** SVILUPPO E CARATTERIZZAZIONE DI UN MODELLO ANIMALE DI INSULINO RESISTENZA
- WP3** STUDI D'ORGANO SUL MODELLO PRECLINICO
- WP4** ANALISI DEI MECCANISMI MOLECOLARI: STUDIO IN VITRO E IN VIVO
- WP5** STUDI CLINICI
- WP6** SVILUPPO DI METODICHE ANALITICHE HIGH-THROUGHPUT PER LA VALIDAZIONE E L'UTILIZZO IN DIAGNOSTICA DI POTENZIALI BIOMARCATORI

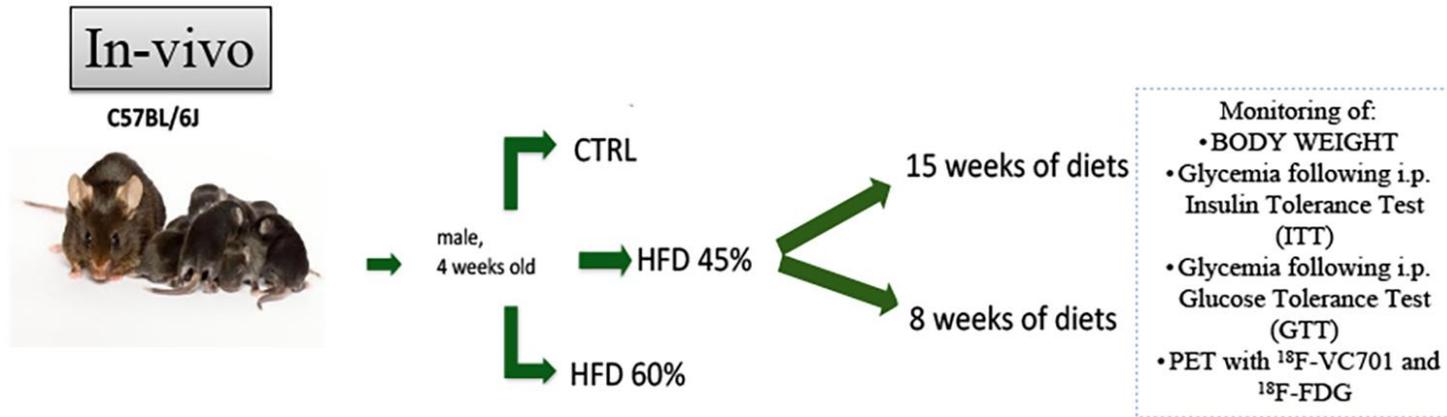
AMANDA



4- ORGANIZZAZIONE DEL PROGETTO

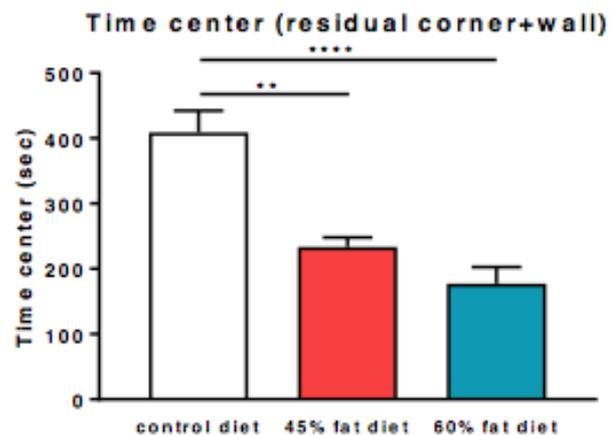
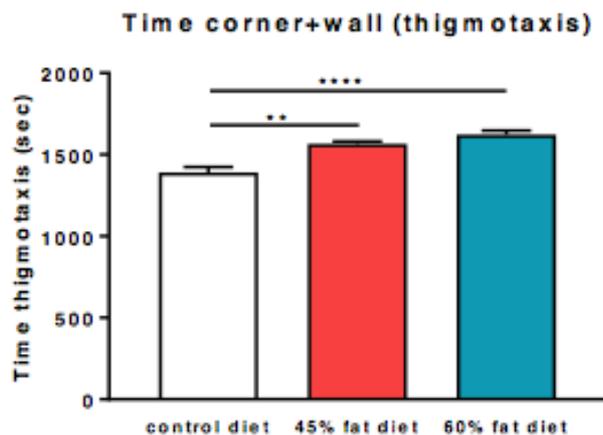
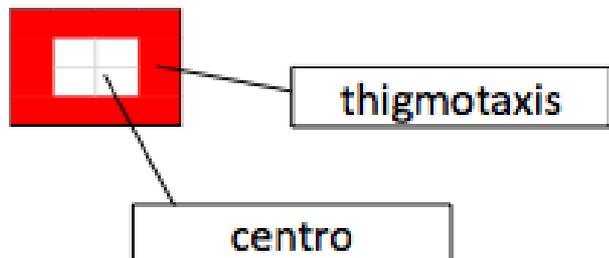


WP2: MODELLO ANIMALE



- La dieta HFD porta ad un aumento del peso corporeo a partire dalla 1 settimana e per tutto il periodo di trattamento
- Gli animali sviluppano intolleranza al glucosio dopo 3 settimane di dieta HFD
- Gli animali sviluppano intolleranza all'insulina dopo 5 settimane di dieta HFD

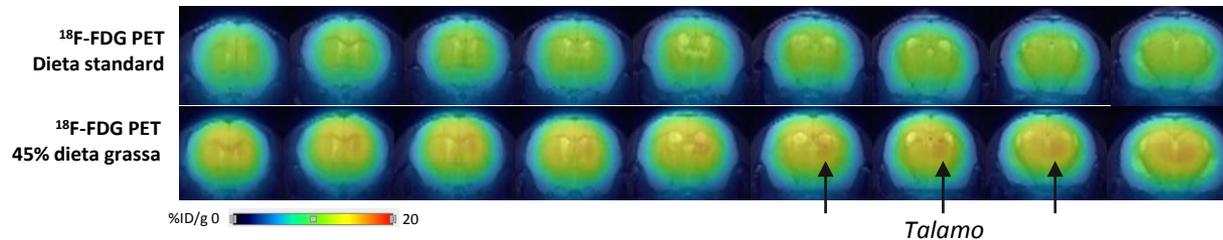
WP2: TEST COMPORTAMENTALI- TIGMOTASSI (ANSIA)



AMANDA



WP2: PET IMAGING DEL METABOLISMO DEL GLUCOSIO

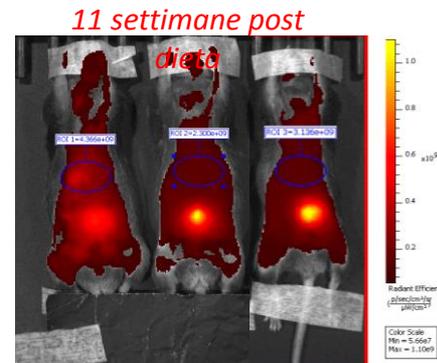
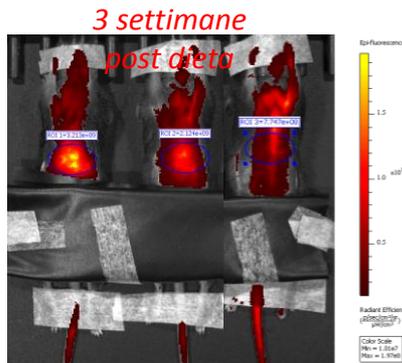


PET imaging del cervello con $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ in topolini adulti alimentati con dieta grassa (45% HFD) per 5 settimane dimostra una riorganizzazione del metabolismo del glucosio.

AMANDA

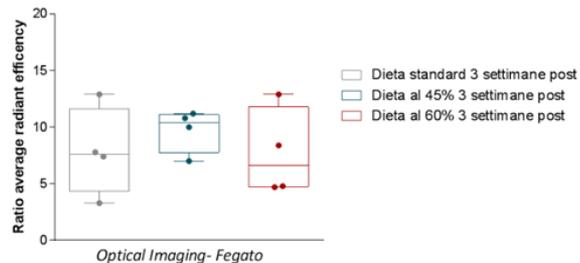


WP2: ANALISI PER OPTICAL IMAGING – INFIAMMAZIONE EPATICA INDOTTA DA DIETA GRASSA.

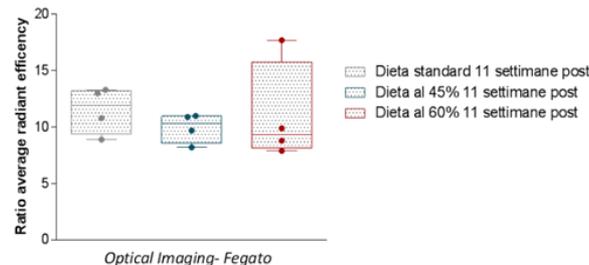


Analisi
dell'infiammazione
epatica con OI utilizzando
una sonda fluorescente
per le metalloproteinasi
(MMPsense 750 Fast®)
iniettata 24 h prima.

MMP-sense 3 settimane post dieta



MMP-sense 11 settimane post dieta

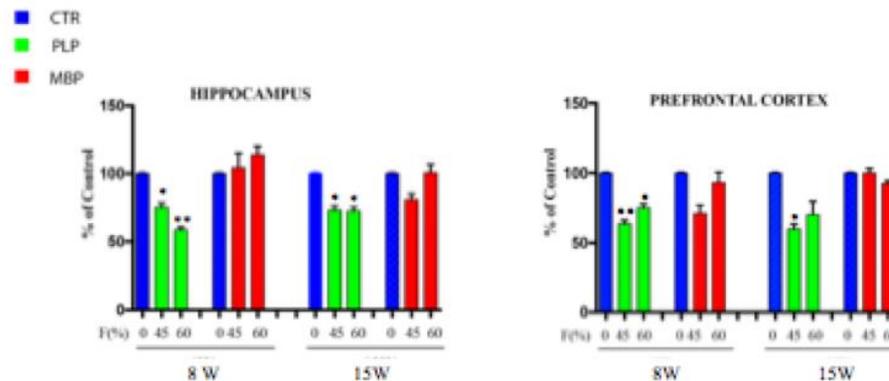


WP3: STUDI D'ORGANO SUL MODELLO PRECLINICO

WP4: ANALISI DEI MECCANISMI MOLECOLARI: STUDIO IN VITRO ED IN VIVO

Analisi di lisati ippocampali da animali trattati con dieta grassa per 15 settimane, in particolare con HFD al 45% , mostrano:

- un aumento nell'espressione di fattori collegati all'insulino resistenza come la fosforilazione di AKT
- livelli ridotti of recettori eccitatori dei neuro-trasmittitori in seguito a dieta HFD
- livelli alterati di proteine mieliniche nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale



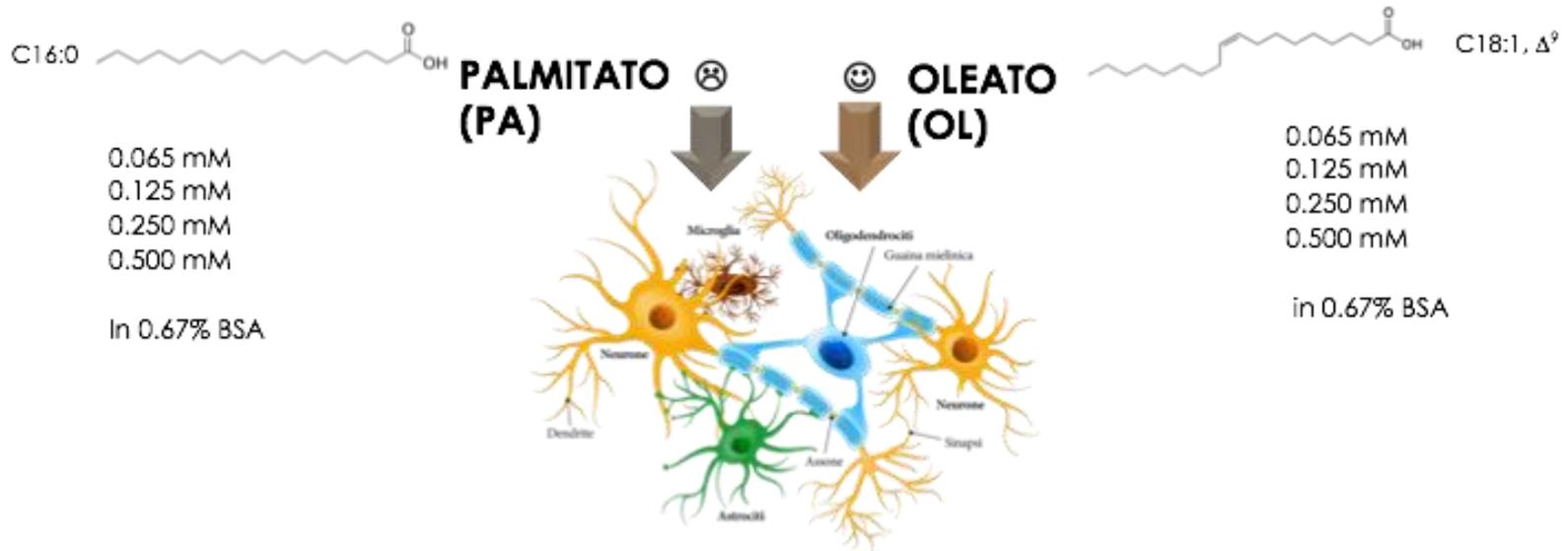
AMANDA



Livelli elevati di acidi grassi liberi circolanti (FFA) sono un segno clinico della sindrome metabolica, IR, obesità e T2D.

La dieta grassa che induce IR nel modello animale

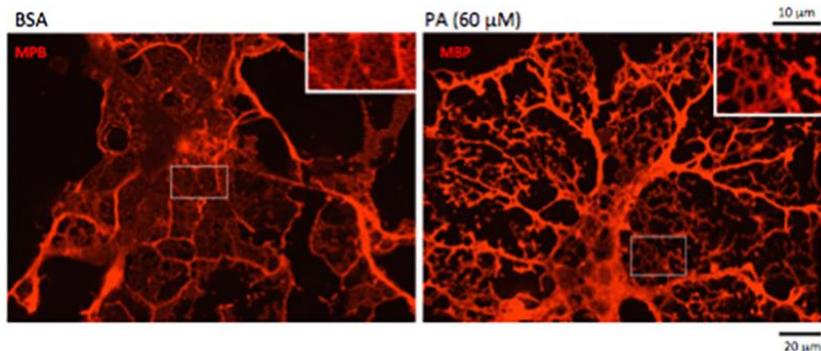
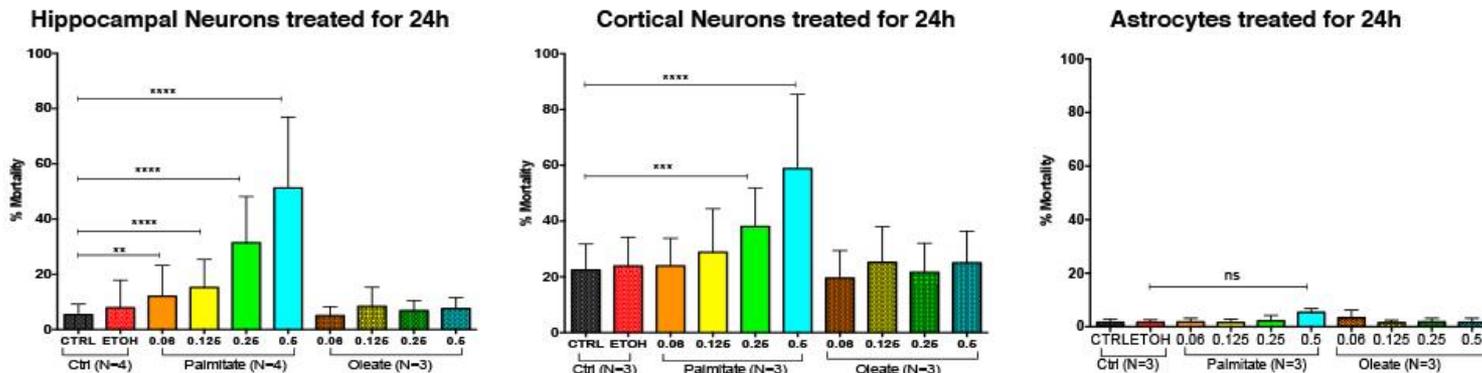
- aumenta la deposizione di acido palmitico nell'ippocampo
- induce un' aumentata espressione dell'enzima palmitoil-transferasi, che è in grado di alterare le proteine sinaptiche sottolineando la connessione tra malattie metaboliche e cognitive.



AMANDA



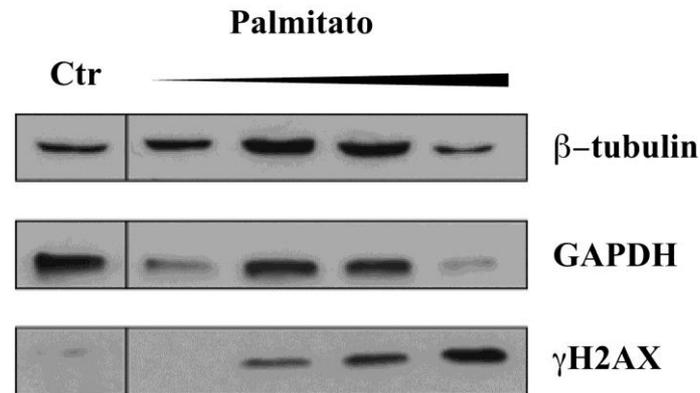
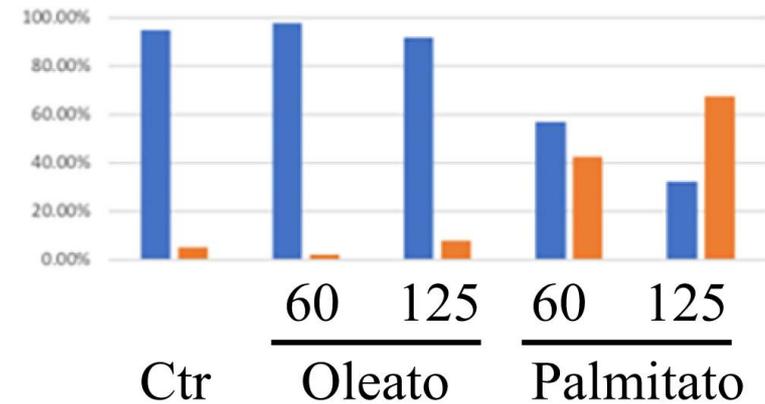
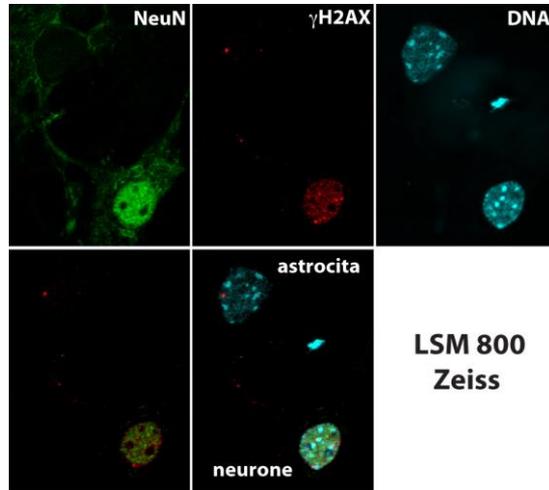
Alte concentrazioni di Palmitato inducono morte neuronale, hanno un effetto minore sulla microglia e non sono tossiche per gli astrociti



Trattamenti acuti di culture primarie di oligodendrociti con Palmitato inducono alterazioni morfologiche

WP4. MARCATORI DI DDR (FOCI γ H2AX) IN NEURONI CORTICALI IN VITRO ESPOSTI AD ACIDI GRASSI

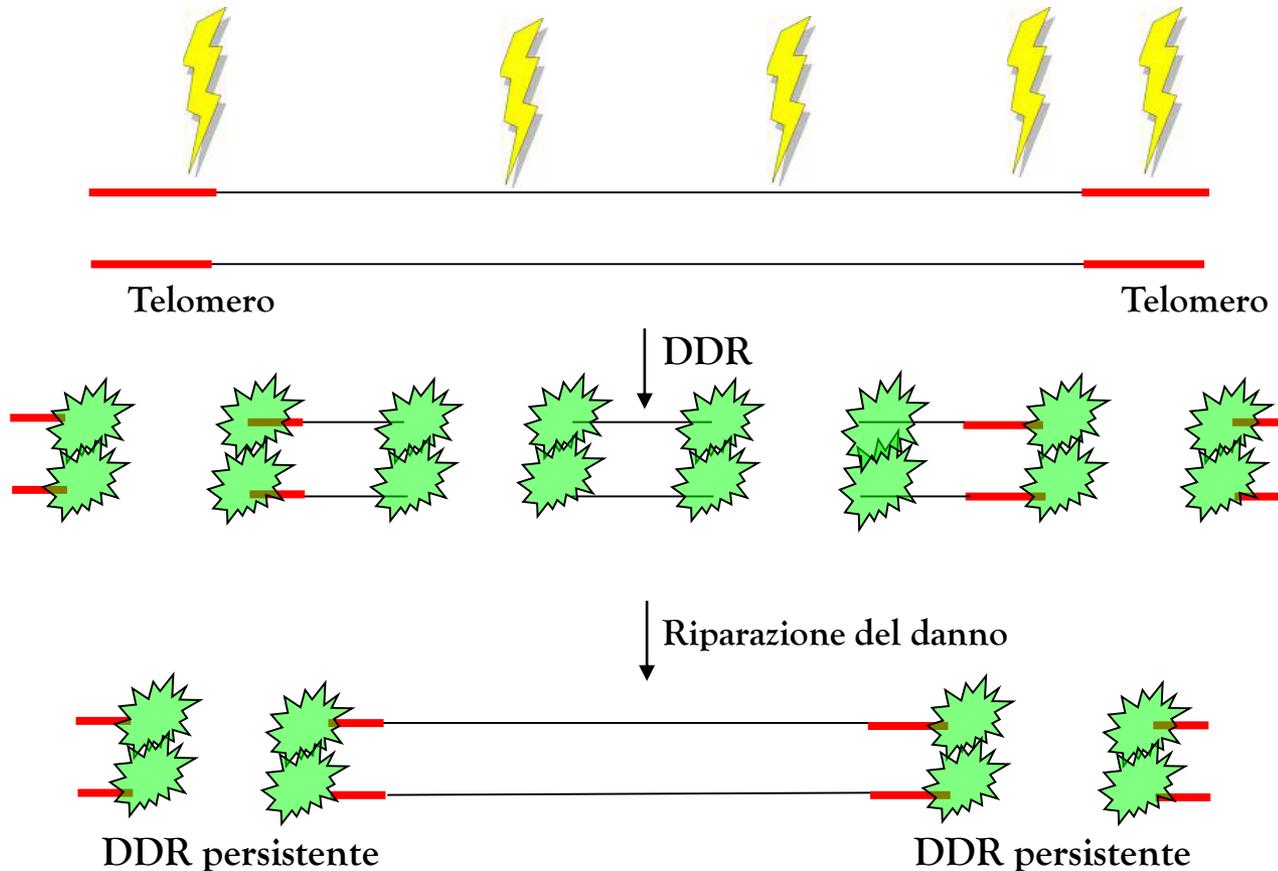
Foci γ H2AX



AMANDA



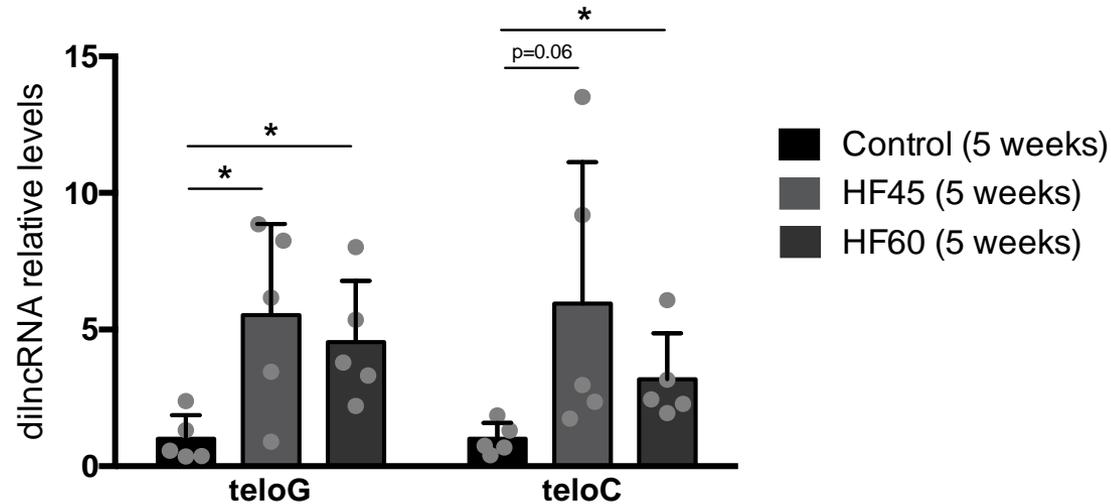
WP 4 I TELOMERI SONO SITI DI ACCUMULO DI DANNO IRREPARABILE AL DNA



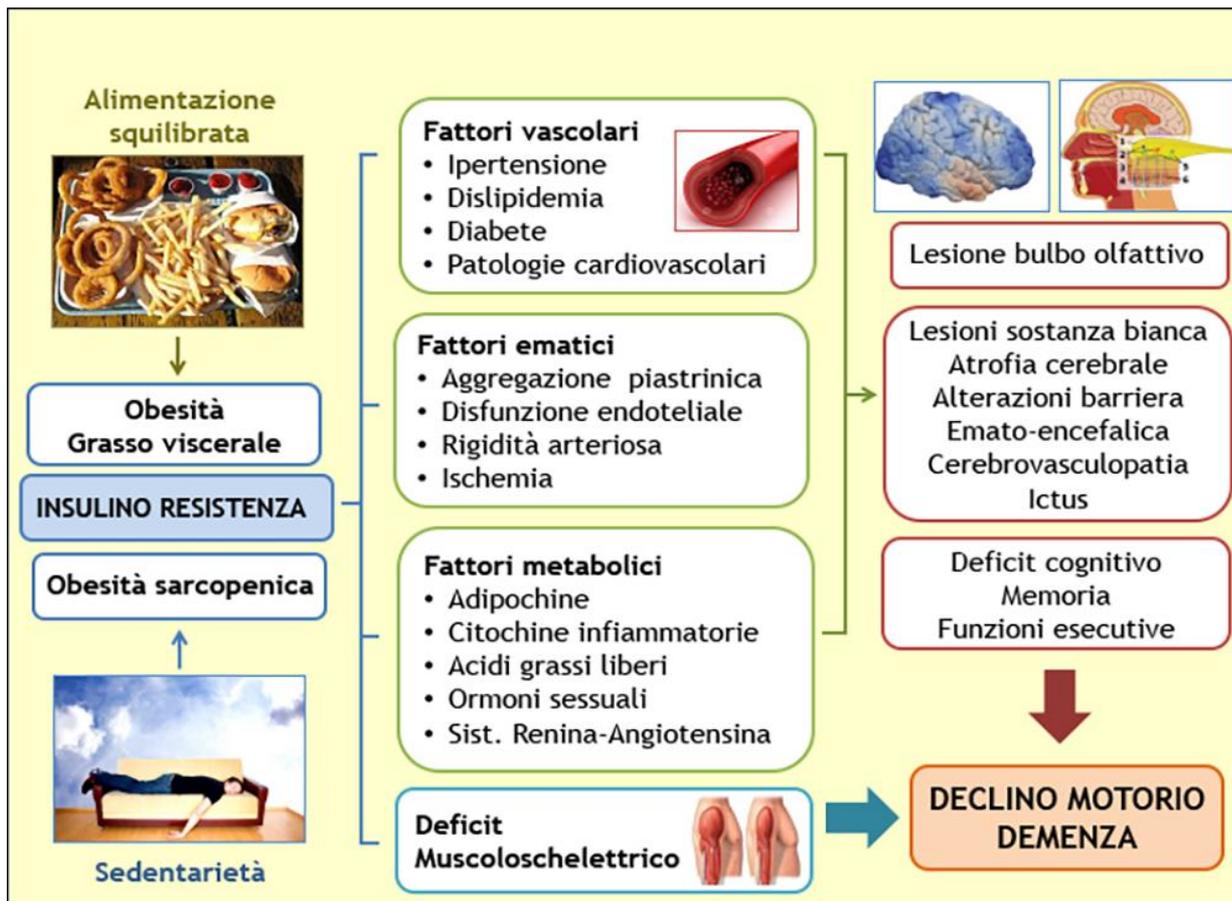
AMANDA



WP4 MARCATORI DI ATTIVAZIONE DELLA DDR (DDRNA) E DI SENESCENZA REPLICATIVA IN TESSUTO PANCREATICO IN VIVO



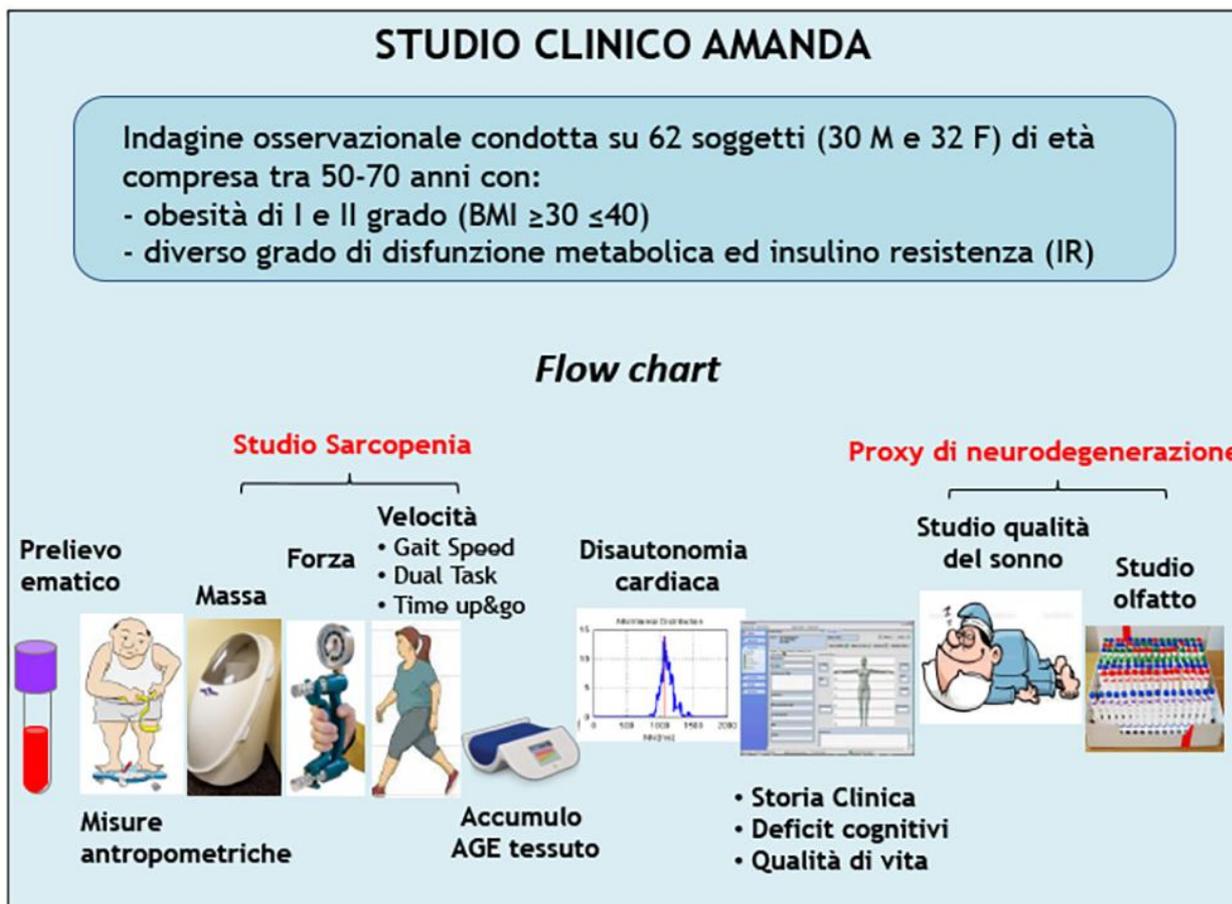
WP5. STUDI CLINICI



AMANDA



WP5. STUDI CLINICI



AMANDA



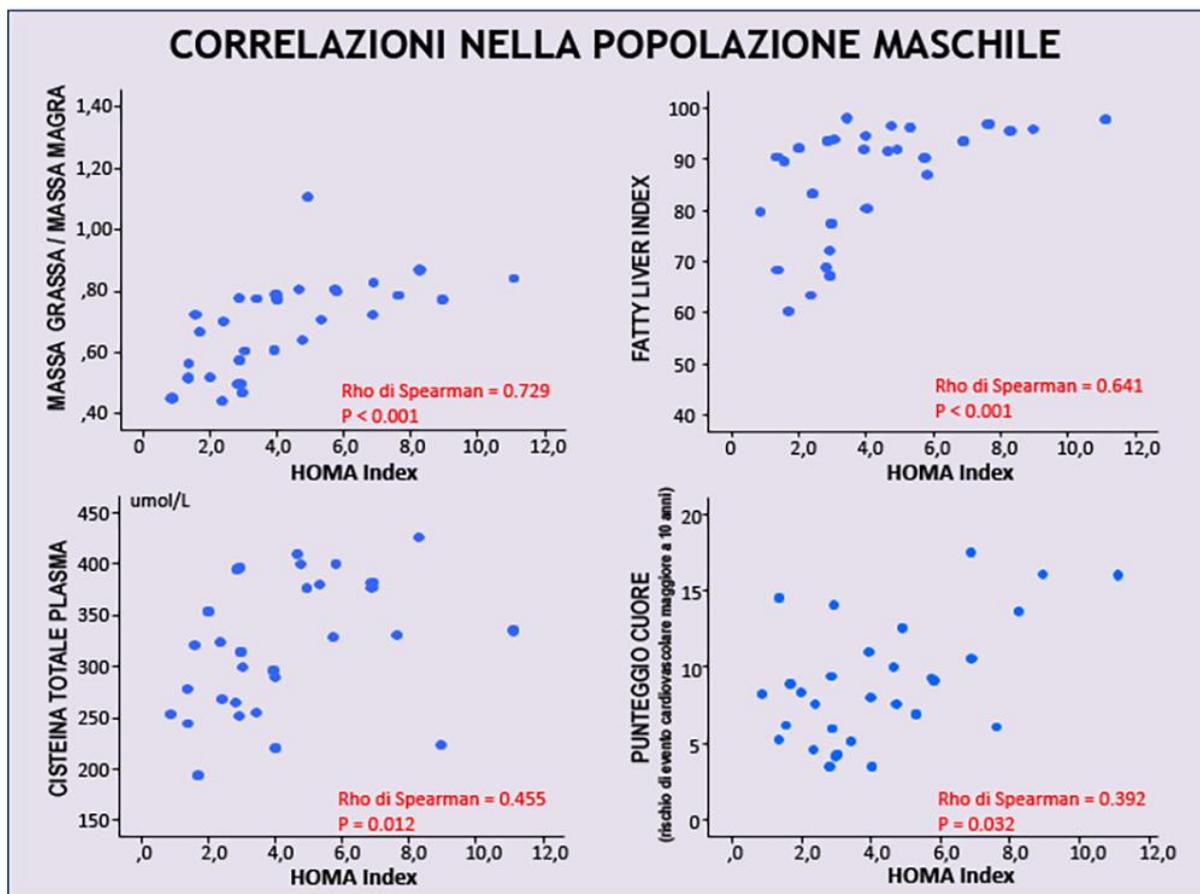
WP5. STUDI CLINICI

PARAMETRI ANORMALI NEI DIVERSI DOMINI

PREVALENZA > 10% DI UN RISULTATO ALTERATO RISPETTO AI DATI NORMATIVI DELLA LETTERATURA O AI DATI DI RIFERIMENTO DEI CONTROLLI SANI DEL NOSTRO LABORATORIO

- **Insulino-Resistenza:** HOMA-IR, glicemia, prodotti di glicosilazione (AGE)
- Proxy **neurodegenerazione:** score olfatto, qualità sonno
- **Sarcopenia:** velocità del cammino (gait speed)
- **Stress ossidativo:** GSH ridotto sangue, Cisteina totale plasma
- **Inflammazione:** neopterin urinaria
- **Disautonomia:** variazione della frequenza cardiaca test lying to standing

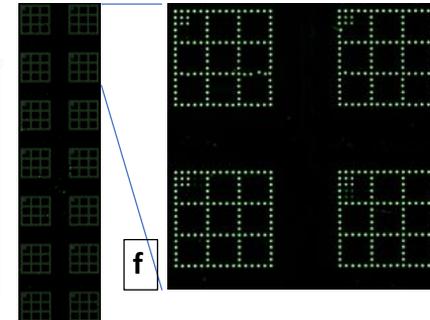
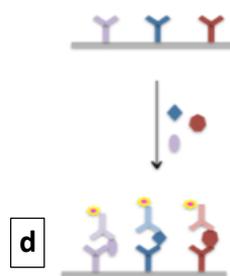
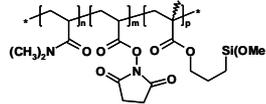
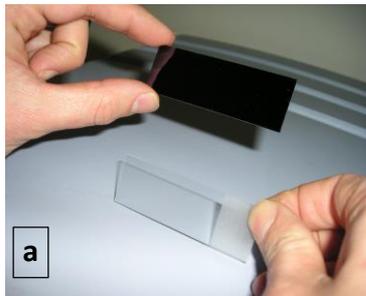
WP5. STUDI CLINICI



AMANDA



WP : ARRAY PER BIOMARCATORI DI SARCOPENIA ED INFIAMMAZIONE IN COLLABORAZIONE CON IFC

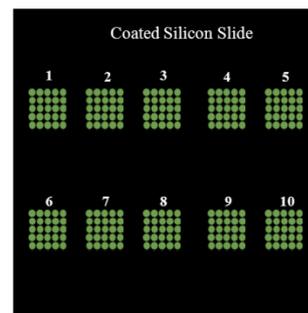
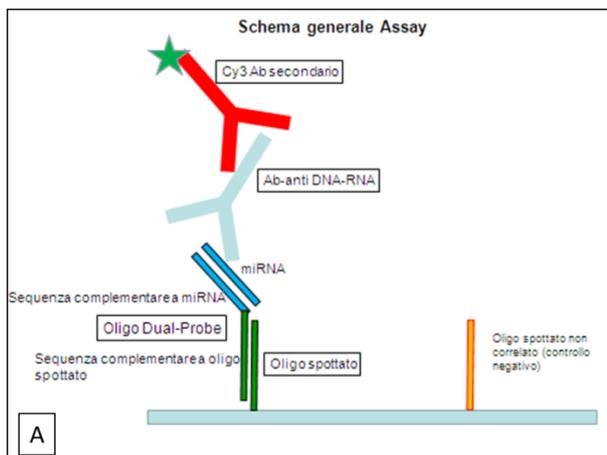


AMANDA



WP 6.3

SVILUPPO DI MICRO-ARRAY PER MONITORARE LA DDR



Coated Silicon Chip:

- 1 miR-15a
- 2 miR-18a
- 3 miR-19a
- 4 miR-29a
- 5 miR-92
- 6 let-7g
- 7 miR-335
- 8 miR-378
- 9 miR-19b-3p
- 10 miR-21-5p



- 8 miR-378
- 10 miR-21-5p



RICADUTE SUL TERRITORIO LOMBARDO

Budget Totale = 2.600.000 €

Risorse economiche investite nell'assunzione di nuovi ricercatori (10 assegnisti, 3 borsisti e 2 TD - 1 Tecnico e 1 Ricercatore) destinati al Progetto è di 827.970 €.

Risorse economiche destinate all'acquisto di strumentazioni è di 906.000 €

AMANDA



RICADUTE SUL TERRITORIO LOMBARDO

- Approfondire il dialogo e l'integrazione scientifica tra i 6 istituti CNR Lombardi attivi in ambito biomedico a cui si aggiunge ora ICRM del Dipartimento di Chimica e Tecnologia dei Materiali
- Collegamento con Cluster Lombardo Scienze della Vita nel cui direttivo siede un rappresentante del CNR
- La strumentazione acquisita viene a formare una piattaforma fruibile sia da tutti i ricercatori degli istituti coinvolti sia da Università, Enti di ricerca e PMI. Sul sito Internet del Progetto è attivo un link per le prenotazioni.
- Le strumentazioni hanno permesso di attivare collaborazioni e/o integrazioni con altri attori del sistema della ricerca Lombardo.
- Il microscopio confocale acquisito da IGM è entrato a far parte del gruppo di strumentazioni che costituiscono il centro di eccellenza dell'Università di Pavia in ambito Bio-Imaging.

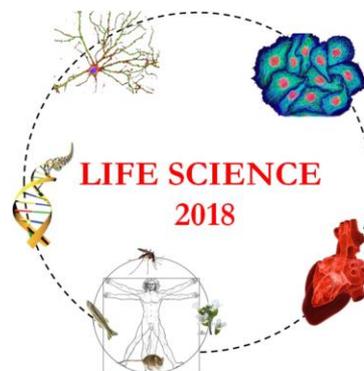
AMANDA





The new CGS2 “Molecular and Cell Microscopy Facility”

19 Ottobre, ore 14:00
aula A4 (Polo Vecchio Ingegneria)



14:00-14:15	Introduzione (Proff. Biggiogera M., Gherardi E., Biamonti G.)
14:15-14:30	La nuova <i>Molecular and Cell Microscopy Facility</i> ” (Prof. Freccero M., Delegato per le infrastrutture della ricerca)
14:30-14:45	Microscopio confocale Leica TCS SP5 II e Microscopio elettronico JEOL JEM-1200EXIII” (Dr. Vaghi P., Dr. Boiocchi M., CGS)
14:45-15:30	Microscopia confocale STED e <i>light sheet</i> (Ing. Sapuppo P., Leica)
15:30-15:45	Amnis Imagestream per la <i>Single Cell analysis</i> (Dr. Comincini S., DBB)
15:45-16:00	Microscopia elettronica Cryo TEM con FEI Glacios (Prof. Forneris F., DBB)
16:00-16:15	MicroCT-1276 Brucker (Prof. Forlino A., DMM; Carretta P., Dip. Fisica)
16:15-16:30	Citofluorimetria e Microscopia all’IGM-CNR (Dr. Sabbioneda S., IGM-CNR)
16:30-16:45	Conclusioni (Prof. Albertini A., DBB)

AMANDA



RICADUTE SUL TERRITORIO LOMBARDO

- Il sistema di imaging ottico in vivo VIS LUMINA della Ditta Perkin Elmer acquistato da IBFM fa parte di una piattaforma di imaging preclinico in vivo, che comprende tra l'altro anche un tomografo PET/SPECT e un tomografo PET/CT. La piattaforma si realizza mediante la collaborazione di IBFM con l'Università Milano Bicocca e l'IRCCS San Raffaele, nel contesto della Infrastruttura di Ricerca ESFRI EuroBioImaging, del cui nodo italiano IBFM è partner.

AMANDA



EVENTI DIVULGATIVI

Novembre 2017 – Settembre 2018

Corso di Formazione ECM “Disturbi del sonno e biomarcatori di obesità sarcopenica: studio dei meccanismi della prefragilità”, organizzato dal personale di IFC CNR in collaborazione con la Struttura Complessa di Dietetica e Nutrizione Clinica dell’ASST GOM Niguarda, indirizzato al personale sanitario del suddetto Ospedale.

Marzo 2018

Dott. Paolo Vezzoni- IRGB. Intervista sulla dieta Mediterranea trasmessa a Radio 24

AMANDA



PUBBLICAZIONI

Al momento sono stati pubblicati 13 lavori con i ringraziamenti al Progetto con IF totale di 94,55 e IF medio di 7,27

- Lizier M et al. Cell fusion in the liver, revisited. World J Hepatol. (2018) 10:213-221.
- Faggioli F, et al. B lymphocytes limit senescence-driven fibrosis resolution and favor hepatocarcinogenesis in mouse liver injury. Hepatology. (2018) 67:1970-1985.
- Figueiredo C, et al. Discrimination between the endoplasmic reticulum and mitochondria by spontaneously inserting tail-anchored proteins. Traffic, (2018), 19: 182-197.
- Rossetti I, et al. Calcitonin gene-related peptide decreases IL-1beta, IL-6 as well as Ym1, Arg1, CD163 expression in a brain tissue context-dependent manner while ameliorating experimental autoimmune encephalomyelitis. Journal of Neuroimmunology (2018), 323: 94-104
- Crespi A, et al. The fifth subunit in alpha3beta4 nicotinic receptor is more than an accessory subunit. FASEB J, (2018), 32, 4190-4202.

PUBBLICAZIONI

- Fossati G, et al. Pentraxin 3 regulates synaptic function by inducing AMPA receptor clustering via ECM remodeling and β 1-integrin. EMBO Journal, in press.
- Morini R, et al. Lack of the Actin Capping Protein, Eps8, Affects NMDA-Type Glutamate Receptor Function and Composition. Front. Mol. Neurosci. (2018) 11:313.
- Pignataro D, et al. A missense MT-ND5 mutation in differentiated Parkinson Disease cytoplasmic hybrids induces ROS-dependent DNA damage response amplified by DROSHA. Scientific Rep. (2017) 7:9528.
- Biamonti G, et al A. The Krebs Cycle Connection: Reciprocal Influence Between Alternative Splicing Programs and Cell Metabolism. Front Oncol. (2018) 8: 408.
- Pozzi D, et al. The Communication Between the Immune and Nervous Systems: The Role of IL-1b in Synaptopathies. Front Mol Neurosci. (2018) 11: 111. Review.
- Filipello F, et al. Lack of the microglial innate immune receptor TREM2 results in defective synapse elimination and altered brain connectivity. Immunity. (2018) 48(5):979-991.

PUBBLICAZIONI

- Zanni E, et al. Combination of Metabolomic and Proteomic Analysis Revealed Different Features among *Lactobacillus delbrueckii* Subspecies *bulgaricus* and *lactis* Strains While In Vivo Testing in the Model Organism *Caenorhabditis elegans* Highlighted Probiotic Properties. *Front Microbiol.* (2017) 28:1206.
- Sereni L, et al Autonomous role of Wiskott-Aldrich Syndrome platelet deficiency in inducing autoimmunity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* (2018) S0091-6749(18)30201-X.

AMANDA



PRINCIPALI COLLABORAZIONI

- Dipartimento di Epatologia Università Statale di Milano
- Unit of Experimental Oncology and Immunology, Department of Molecular and Translational Medicine, University of Brescia
- Neuro Center, IRCCS, Humanitas Clinical and Research Center
- Dipartimento di Dietetica e Nutrizione Clinica dell'ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda
- Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Università di Pavia

AMANDA



INFRASTRUTTURE

ISTITUTO DI NEUROSCIENZE –
CONFOCALE ZEISS LSM800 (156 k€)



AMANDA



INFRASTRUTTURE

ISTITUTO DI GENETICA MOLECOLARE CONFOCALE ZEISS LSM800 (170 k€)



AMANDA



INFRASTRUTTURE

ISTITUTO DI BIOIMMAGINI E FISIOLOGIA
MOLECOLARE

SISTEMA DI IMAGING OTTICO IN VIVO IVIS

LUMINA DELLA DITTA PERKIN ELMER (160 K€)



AMANDA



INFRASTRUTTURE

ISTITUTO DI TECNOLOGIE BIOMEDICHE SERVER DELL/HP (170 k€)



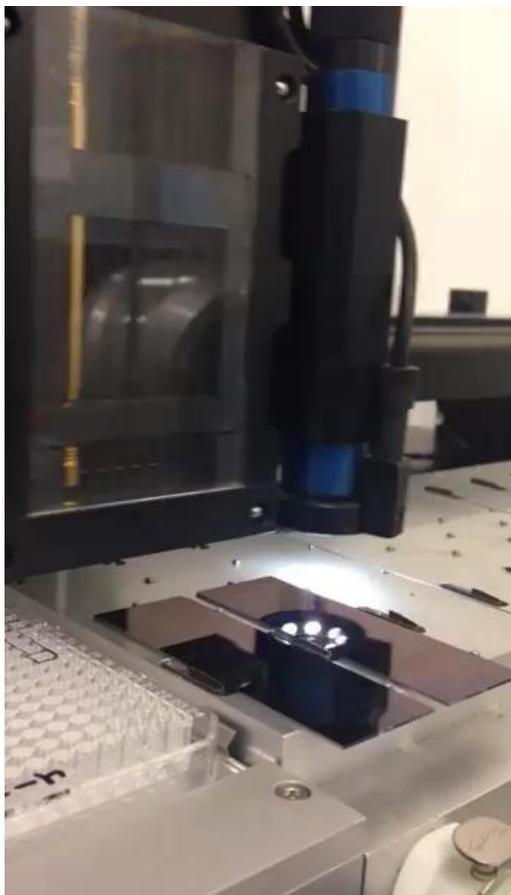
AMANDA



INFRASTRUTTURE
MOLECOLARE

ISTITUTO DI CHIMICA DEL RICONOSCIMENTO

SPOTTER ARRAYER S12 SCIENION (150 k€)



AMANDA

